Producción de T*richoderma spp*, en diferentes sustratos

Flores E; Huanca G; Onofre X; Jiménez P; Torrez M; Guarachi H; Condori X; Mamani Y; Misto N; Alfaro N; Choque R; Cruz A; Cruz D. y Celia M. Fernández Chávez

RESUMEN: Dentro de los microorganismos utilizados en el control biológico de enfermedades esta la especie *Trichoderma* es mismo que es el hongo más estudiado a nivel mundial. La producción de este agente se realiza mediante diferentes métodos como por ejemplo los artesanales, cultivos líquidos, estáticos, sólidos y bifásicos. Uno de los sustratos más utilizados para la producción de *Trichoderma* es el arroz, pero también se reproduce en cebada, amaranto, quinua, maíz y otros. Esta investigación se estableció con el propósito de encontrar un sustrato orgánico, económico y de fácil adquisición en la región, con el que *Trichoderma* tenga una alta producción de esporas. En el presente estudio se utilizaron frascos inoculados con el hongo en los cuales se observó su reproducción en los diferentes sustratos durante cinco semanas. En la tercera semana los frascos mostraron mejor reproducción del hongo, debido al incremento de la temperatura. Finalmente en la quinta semana se muestra una considerable reproducción del hongo en el sustrato de arroz y no así en los otros factores, debido principalmente a la falta de tiempo en la pre-cocción, manejo de la temperatura y contaminación en varios de los frascos de vidrio.

PALABRAS CLAVE: *Trichoderma* spp., producción, control biológico, sustratos.

AUTORES: ***Flores E; Huanca G; Onofre X; Jiménez P; Torrez M; Guarachi H; Condori X; Mamani Y; Misto N; Alfaro N; Choque R; Cruz A; Cruz D.:*** Estudiantes de Manejo Integral de Plagas. Carrera de Ingeniería Agronómica. Facultad de Agronomía. Universidad Mayor de San Andrés.

Celia M. Fernández Chávez: Docente Manejo Integral de Plagas. Carrera de Ingeniería Agronómica. Facultad de Agronomía. Universidad Mayor de San Andrés. cmfch3311@hotmail.com

Presentado: 18/07/2018. Aprobado: 15/08/2018.

INTRODUCCION

La mayoría de las enfermedades de plantas generalmente se controlan con fungicidas químicos, los cuales se aplican al suelo, semillas, follaje y fruto. Las consecuencias negativas sobre la salud, la contaminación del ambiente, la residualidad y el desarrollo de resistencia, han generado la búsqueda de alternativas de reemplazo con la incorporación de agentes biológicos. La necesidad de reducir el uso de fungicidas en el control fitosanitario hace necesario desarrollar tecnologías que permitan de forma fácil, económica y efectiva obtener productos a partir de microorganismos, con la calidad y cantidad suficiente para su aplicación masiva en las áreas de cultivo.

Muchos hongos presentes en el suelo causan severos daños a las raíces de las plantas, llegando incluso a provocar la muerte de las mismas. Entre los hongos del suelo que causan mayores pérdidas están: Fusarium, *Phytophthora*, *Pythium y Rhizoctonia*, los cuales afectan una gran variedad de cultivos. Mediante el uso de hongos y bacterias antagónicas se han podido conocer estrategias con mayor potencial para el control de enfermedades ocasionadas por patógenos del suelo. El control biológico (CB) utiliza organismos vivos; involucra también microorganismos cuya actividad biológica disminuye el daño causado por los patógenos de las plantas (Herrera–Estrella y Chet, 1998).

Los hongos del género *Trichoderma spp*. son un grupo de microorganismos que habitan naturalmente en un número importante en suelos agrícolas, con abundante materia orgánica en descomposición y altas densidades de raíces. Su desarrollo se ve favorecido por la presencia de otros hongos que atacan a los cultivos. *Trichoderma spp*., se encuentra ampliamente distribuido en todo el mundo en diferentes zonas de vida, además también se suelen hallar asociados a la superficie de plantas y

cortezas de madera descompuesta, en diferentes zonas de vida y hábitat.

El interés científico despertado por los hongos de este género, se debe a las características antagónicas que presentan frente a hongos fitopatógenos. Entre los mecanismos de control referenciados para *Trichoderma* sp., está la competencia por nutrientes o espacio, el micoparasitismo y la antibiosis. Estos tres mecanismos no son excluyentes sino que actúan sinérgicamente en el control de los patógenos. La importancia relativa de cada uno de ellos depende de cada pareja de antagonismo-patógeno y de las condiciones ambientales (Harman y Kubicek, 1998; Chet et ál., 1997; Belanger et ál., 1995).

Las necesidades nutricionales de *Trichoderma* sp., son bien conocidas, es capaz de degradar sustratos muy complejos como almidón, pectina y celulosa entre otros, y emplearlos para su crecimiento gracias al gran complejo enzimático que posee (enzimas hidrolíticas como amilasas, pectinasas, celulasas y quitinasas entre otras). Así mismo, *Trichoderma* asimila como fuente de nitrógeno compuestos tales como aminoácidos, urea, nitritos, amoniaco y sulfato de amonio.

La producción semi-industrial e industrial de *Trichoderma*, es una alternativa tecnológica muy eficiente desde el punto de vista productivo y económico para la obtención de biofungicidas de alta calidad, involucra procesos estandarizados con el control de variables como humedad temperatura y flujo de aireación. Este último muy importante puesto que puede mejorar la cantidad y calidad de las esporas producidas (Agosin et ál., 1997).

MATERIALES Y METODOS

El trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía perteneciente a la Universidad Mayor de San Andrés ubicada bajo la supervisión del Ing. Freddy Cadena.

Para iniciar con el experimento se eligieron cuatro tipos de sustratos, cebada, amaranto, quinua y arroz, para lo cual se formaron cuatro grupos de estudiantes, para que se hagan cargo de cada sustrato.

Una vez elegidos los sustratos, cada grupo (arroz, quinua amaranto y cebada), procedió a pesar 100 gr. de los mismos para luego colocar los sustratos en recipientes con agua con el objetivo de realizar una pre-cocción de los mismos durante 5 minutos, posteriormente se hizo enfriar los sustratos y se procedió a la esterilización de los sustratos conjuntamente los frascos de vidrio en autoclave, durante 15 minutos a una temperatura de 120 ºC.

Una vez pasado este tiempo se procedió a llevar los frascos a la cámara de flujo laminar conjuntamente los materiales que se utilizaron, y la indumentaria personal de quienes realizaran la operación del inoculado.

Se tomó un cm^2 del cultivo de *Trichoderma* sp., (hongo proporcionado por el Ing. Freddy Cadena) con la ayuda de un asa y se introdujo a cada frasco esterilizado, para posteriormente sellar los frascos con parafilm y rotular cada frasco, llevando a un mostrador donde se controle la temperatura.

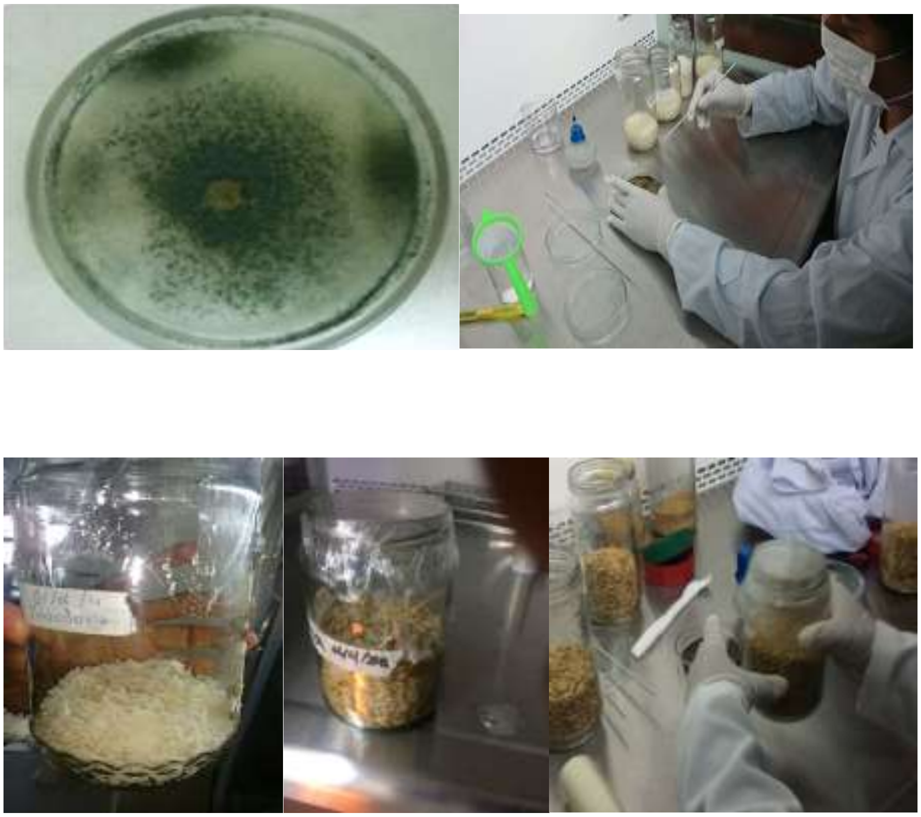


Figura 1. Cultivo del hongo *Trichoderma sp.*

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Durante la primera semana se observó en todos los tratamientos (sustratos) que el hongo inoculado tenía diferentes respuestas de acuerdo al sustrato, donde comenzó a desarrollarse, en un principio este desarrollo fue con lentitud.



Figura 2. Cultivo del hongo *Trichoderma sp.* en frascos con semilla de cebada.

A partir de la tercera semana, se decidió colocar una estufa para poder tener una temperatura adecuada parta el desarrollo del hongo, ya que durante las primeras semanas la temperatura bajo en el ambiente considerablemente.

Una vez incrementada la temperatura, se observó que el hongo comenzó a desarrollarse con mayor rapidez en algunos tratamientos o sustratos. Uno de los grupos logró realizar el siguiente conteo de conidios.

Tabla 1. Determinación de la producción de conidios, tomando en cuenta el hematocimetro.

Cuadro superior izquierdo
2**x**25mm**x**100mm**x**1=5000
Cuadro inferior izquierdo
1**x**25mm**x**100mm**x**1=2500
Cuadro superior derecho
2**x**25mm**x**100mm**x**1=5000
Cuadro inferior derecho
3**x**25mm**x**100mm**x**1=7500
Cuadro central
3**x**25mm**x**100mm**x**1=7500
Promedio total 5500 conidios/1ml.

Pasadas las cinco semanas desde el inicio del experimento se observó que el *Trichoderma* se desarrolló con mayor facilidad en el sustrato de arroz y no así en los otros sustratos, esto debido a varios factores, como por ejemplo, se pudo verificar que en el caso del amaranto, cebada y quinua, el tiempo de pre-cocción no fue el óptimo, por lo que se debe tener un mayor tiempo hasta que el grano este abierto. Y otro factor importante fue la temperatura.



Figura 3. Cultivo del hongo T*richoderma sp.* en frascos con sustrato de arroz.

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir que en este experimento se verifico que el sustrato que permitió mayor desarrollo del hongo fue el arroz pre-cocido, tal cual lo indica revisión bibliográfica.

Cabe mencionar que en cada grupo se tuvieron frascos con sustrato que se contaminaron probablemente por el descuido en relación a la limpieza que se debe tomar en cuenta.

Cabe aclarar que el tiempo del experimento fue muy corto por la duración del semestre, ya que este experimento lo realizaron los estudiantes de la asignatura de Manejo Integrado de Plagas conjuntamente la docente ce la asignatura.

Sobre el experimento Sivila & Alvarez (2013), indican que las botellas y bolsas con el sustrato inoculado se colocan en una estufa a 25-27ºC durante diez días con un fotoperiodo de doce horas, cada dos días se agitan a fin de facilitar la colonización homogénea del sustrato.

Los mismos autores indican que la humedad es otro factor ya que las hifas son poco resistentes al secado, por lo se busca en la multiplicación artesanal generar las condiciones necesarias para la producción de conidios.

RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, se recomienda tomar en cuenta el tiempo de pre-cocción de los granos, es decir, cebada, quinua, para que el hongo tenga el alimento necesario para desarrollarse. Otro aspecto importante fue la temperatura, por lo que se recomienda controlar y tener una temperatura para de esta forma tener el desarrollo del *Trichoderma*.

También se recomienda tener mucho cuidado con la limpieza, desinfección de equipos, materiales y de los manipuladores en el momento de realizar la inoculación del hongo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Agosin, E.; Aguilera, J. M. (1998). *Industrial production of active propagules of Trichoderma for agricultural uses.* pp. 205–228. In: Trichoderma and Gliocladium. Vol. 2. HARMAN, G. E.; KUBICEK, C. P. (Eds.). Tylor & Francis. Inc. Bristol, PA. USA.

Fernández–Larrea, V. O. (2001). *Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario.* Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 62: 96–100.

García R.; Riera R.; Zambrano C.; Gutierrez L. (2006). *Desarrollo de un fungicida biológico a base de una cepa del hongo Trichoderma harzianum proveniente de la región andina venezolana.* Rev. Fitosanidad Vol 10, Nº 2: 115-121.

Herrera–Estrella, a.; chet, i. (1998). *Biocontrol of bacteria and phy-topathogenic fungi.* pp. 263–283. In:Agricultural Biotechnology. ALTMAN, A. (Ed.). Marcel Dekker, Inc. New York,USA.

INTRAGRI. (2018). Recuperado de: https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/trichoderma-control-de-hongos-fitopatogenos

SIDALC. (2018). Recuperado de: http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=catalco.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=046474 y http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=catalco.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=051159

Sivila, N., & Alvarez, S. (2013). *Producción Artesanal del Trichoderma.* Jujuy-Argentina: San Salvador.